

*На правах рукописи*

**Рендаков Николай Львович**

**ВОЗРАСТНАЯ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА  
ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И КАТЕПСИНОВ  
В И D У ПЕСЦОВ (*ALOPEX LAGOPUS* L.)**

**03.00.04 - биохимия**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Петрозаводск – 2003 .**

Работа выполнена в лабораториях экологической физиологии животных и экологической биохимии Института биологии Карельского научного центра РАН

Научные руководители	доктор биологических наук, профессор Немова Нина Николаевна
	доктор сельскохозяйственных наук Тютюнник Николай Николаевич
Официальные оппоненты	доктор биологических наук, профессор Валуева Татьяна Александровна
	кандидат биологических наук Судакова Надежда Михайловна
Ведущее учреждение	Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Защита диссертации состоится "13" ноября 2003 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета КМ 212.087.01 при Карельском государственном педагогическом университете по адресу: 185035, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17, ауд. 113 Главного корпуса.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельского государственного педагогического университета.

Автореферат разослан " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2003 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

153886K

Малкнелъ А.И.



## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы определяется той важной ролью, которую выполняют тиреоидные гормоны (йодтиронины) в сложной иерархической системе регуляции всех сторон клеточного метаболизма. Известно, что влияние йодтиронинов на метаболизм белков, липидов и углеводов осуществляется, прежде всего, путем воздействия на активность ферментов (Лейтес, Лаптева, 1967; Юдаев, Протасова, 1971; Кандрор, 1999; "Тиреоидные гормоны", 1972; Протасова, 1975; Чернышева, 1995; Ноггин, 1995). Одной из "мишеней" регуляторной функции йодтиронинов являются внутриклеточные протеиназы и, прежде всего, лизосомальные - катепсины (Mathies et al., 1951; Satav, Katyare, 1981; Мартыненко, Коршошенко, 1984; Строев, Рязанова, 1992), участвующие не только в процессах деструкции белков, но и выступающие в качестве инструмента выключения или переключения определенных звеньев обмена и некоторых физиологических процессов (Локшина, 1979, 1987; Немова, 1996). Данные о влиянии йодтиронинов на активность протеиназ лизосом получены в основном на традиционных лабораторных животных и человека. Исследования в этой области, проведенные на представителях других систематических и экологических групп (в частности, на хищниках), менее известны. Песцы клеточного содержания, несмотря на длительный период разведения в неволе, сохранили многие физиологические особенности своих диких сородичей (Ильина, 1975; Берестов, Кожевникова, 1981), вследствие чего экспериментальное исследование метаболизма этих животных может являться моделью того, что происходит в природе с дикими песцами.

Имеющиеся данные о взаимодействии йодтиронинов и протеиназ лизосом в основном посвящены роли катепсинов в процессе гидролиза тиреоглобулина в щитовидной железе. Исследования по влиянию йодтиронинов на активность катепсинов в других органах животных и человека немногочисленны (Satav, Katyare, 1981; Yoshikawa, Terauma, 1984; Строев, Рязанова, 1992). Влияние йодтиронинов на протеиназы лизосом приводит к изменению скорости протеолиза. При этом йодтиронины могут оказывать как анаболическое, так и катаболическое действие. Вопрос о преобладании того или иного эффекта этих гормонов в различных условиях также изучен лишь фрагментарно.

Хорошо изучено влияние различных факторов среды на уровень йодтиронинов в крови млекопитающих (Yamada et al., 1965; Maurel et al., 1977; Maurel and Boissin, 1981; Робы, 1982; Korhonen 1987a,b; Karsch et al., 1995). Работы, затрагивающие вопрос о йодтиронинах у песцов, малочисленны (Bieguszewski, Korowajczyk, 1975; Bieguszewski, Szymeczko,

1979; Smith et al., 1984; Шульгина, Колдаева, 1991; Fuglei et al., 2000). Представляет интерес становление гормональной регуляции активности ферментов в раннем онтогенезе животных, поскольку в первые часы или дни после рождения обнаружена гормональная индукция многих ферментов (Протасова, 1975). Следует отметить, что работы по влиянию йодтиронинов на активность катепсинов в онтогенезе млекопитающих практически отсутствуют.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящего исследования - изучение тиреоидного статуса у песцов и его связи с лизосомальными протеолитическими ферментами. В соответствии с этим были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать возрастную динамику концентрации тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ) в сыворотке крови и активности катепсинов в лизосомальных фракциях гомогенатов органов;
2. Определить содержание йодтиронинов в сыворотке крови песцов при различных физиологических состояниях организма (сезонные адаптации, репродуктивный цикл, голодание);
3. Изучить влияние тироксина и анти тиреоидного препарата мерказолила на активность катепсинов В и D и некоторые другие показатели белкового обмена.

**Научная новизна.** Впервые изучена динамика содержания  $T_4$  и  $T_3$  в сыворотке крови и активности катепсинов В и D в лизосомах селезенки, печени, почек, сердца и скелетных мышц в раннем постнатальном онтогенезе песцов. Обнаружено сопряженное изменение уровня йодтиронинов в сыворотке крови и активности катепсинов в лизосомах органов песцов в онтогенезе. Впервые получены данные о влиянии  $T_4$  и мерказолила на активность лизосомальных протеиназ (катепсинов В и D) и содержание белка в лизосомальных фракциях органов песцов.

**Научно-практическое значение работы.** Полученные результаты вносят вклад в исследование фундаментальной проблемы роли гормональной регуляции процессов жизнедеятельности, связанной с участием гормонов в процессах роста, развития, размножения и в биохимических адаптациях организма к различным факторам среды. Данные о содержании йодтиронинов в сыворотке крови песцов клеточного разведения могут быть использованы для оценки физиологического состояния зверей в различные биологические периоды в учебном процессе при чтении курсов "Биохимия животных" и "Экологическая биохимия".

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Международной конференции "Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира,

почвенного покрова Восточной Финляндии" (Петрозаводск, 1999), VI Молодежной научной конференции "Актуальные проблемы биологии" (Сыктывкар, 1999), Конференции "Биоразнообразие Европейского Севера (теоретические основы изучения, социально-правовые аспекты использования и охраны)" (Петрозаводск, 2001), XI Международном симпозиуме "Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга" (Сыктывкар, 2001), 6-й Пушкинской школе-конференции молодых ученых "Биология - наука XXI века" (Пушино, 2002), Международной научно-практической конференции "Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства" (Киров, 2002), в материалах X Молодежной научной конференции "Актуальные проблемы биологии и экологии" (Сыктывкар, 2003), Международной конференции, посвященной 50-летию Института биологии КарНЦ РАН "Наземные и водные экосистемы Северной Европы: управление и охрана" (Петрозаводск, 2003).

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Уровень йодтиронинов в сыворотке крови и активность катепсинов В и D в лизосомах органов исследованных животных изменяются в онтогенезе взаимосвязанно; возрастная динамика тиреоидных гормонов связана с изменением энергетического и пластического обмена на разных этапах развития песцов.
2. Концентрация йодтиронинов в сыворотке крови песцов изменяется в зависимости от физиологического состояния животных, а именно при сезонных адаптациях, в период воспроизводства и при голодании.
3. Введение  $T_4$  и мерказолила приводит к изменению активности катепсинов В и D в лизосомальных фракциях органов песцов.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 3 статьи и 10 тезисов.

**Объем и структура.** Работа изложена на 155 листах машинописного текста, включает 3 таблицы и 17 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований (3 главы), заключения, выводов, списка литературы (225 наименований, из них 150 иностранных) и приложения (11 таблиц).

**Благодарности.** Выражаю свою глубокую и искреннюю признательность научным руководителям д.б.н., профессору Н.Н. Немовой и д.с.-х.н. Н.Н. Тютюнюки. Благодарю сотрудников лаборатории экологической физиологии Л.К. Кожевникову, Л.Б. Узенбаеву, В.А. Илюху и Т.Н. Ильину за помощь в работе над рукописью и ценные рекомендации. Выражаю благодарность Л.Н. Сироткиной и М.Ю. Крупновой за сотрудничество и помощь в освоении методов исследования. Благодарю за постоянную поддержку Х.И. Мелдо, Т.Г. Долгополову, Е.Б. Свечкину и И.В. Баишникову.

В качестве объектов исследования использовали 212 песцов (*Alopex lagopus* L.) клеточного разведения, содержащихся в зверохозяйстве в одинаковых условиях. Определение общего  $T_4$  и  $T_3$  в сыворотке крови проводили с помощью наборов для радиониммунологического анализа производства фирмы "Immunotech". Концентрацию белка в сыворотке крови, его фракционный состав, содержание гемоглобина и эритроцитов определяли по стандартным методикам (Берестов, 1971). Общую активность катепсина D определяли спектрофотометрически ( $E_{280}$ ) по модифицированному методу Ансона (Алексеев, 1968). Общую активность катепсина В определяли также спектрофотометрически ( $E_{525}$ ) по расщеплению этилового эфира N-бензоил-DL-аргинина (Barrett, Heath, 1977). Содержание белка исследовали в лизосомальных фракциях гомогенатов органов по методу Брэдфорд (Bradford, 1976).

Уровень йодтиронинов и показатели, связанные с обменом белка, изучали в онтогенезе песцов в возрасте 1, 5, 10, 20, 35, 50 и 160 дней. В крови и сыворотке крови определяли содержание гемоглобина и эритроцитов, общего  $T_4$  и  $T_3$ , общего белка и белковых фракций, а в органах — общую и удельную активность катепсинов В и D и содержание белка в лизосомальных фракциях. Изменение уровня йодтиронинов в сыворотке крови песцов изучали при различных физиологических состояниях, связанных с сезоном, репродуктивным циклом и голоданием.

Исследовали влияние йодтиронинов на некоторые показатели обмена белка у 5-месячных песцов. Животные были разделены по принципу аналогов на 4 группы, по 10 зверей в каждой. В течение 3-х недель в 1-й опытной группе песцы получали по 0,005 г мерказолила (антищитовидный препарат) ежедневно. Во 2-й группе мерказолил давали по схеме, чередуя 5-дневное введение (по 0,005 г), с 5-дневным перерывом. В 3-й группе по такой же схеме в корм вводили  $T_4$  в дозе 50 мкг на зверя. До и после опыта у 6 животных из каждой группы брали кровь. Взвешивание всех животных производили трижды: в начале, через 2 недели после начала и в конце эксперимента.

Полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики (Лакин, 1980), с применением компьютерных программ статистической обработки Statgraphics и Excel. При сравнении данных использовали непараметрический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни; В необходимых случаях использовали корреляционный и дисперсионный анализ.

1. Возрастная динамика концентрации тиреоидных гормонов и активности катепсинов у песцов. Полученные результаты показывают, что в онтогенезе песцов происходят значительные изменения содержания йодтиронинов в сыворотке крови (рис. 1) и активности катепсинов В и D в лизосомальных фракциях органов (рис. 2, 3). Выявлен повышенный уровень  $T_4$  и  $T_3$  в 1-дневном возрасте у песцов, что, возможно, связано с родовым стрессом новорожденных. Показано, что у ягнят при рождении происходит усиленный выброс ТТГ и  $T_4$ . У новорожденных поросят гистологический анализ показал усиление секреции гормонов щитовидной железы, которое начинается уже во время рождения (in utero) (Slebozinski, Mach, 1971; Slebozinski, 1972). В возрастном промежутке с 1-го по 5-й день после рождения концентрация  $T_3$  снижается с  $4,05 \pm 0,29$  до  $1,85 \pm 0,39$  нмоль/л ( $P < 0,01$ ),  $T_4$  — с  $50,16 \pm 5,86$  до  $29,74 \pm 2,35$  нмоль/л ( $P < 0,01$ ). Дальнейшее изменение уровня йодтиронинов имеет фазный характер. При этом уровень  $T_4$  значительно повышается к 20-дневному возрасту ( $54,70 \pm 3,13$  нмоль/л), а  $T_3$  — к 35-дневному ( $2,93 \pm 0,23$  нмоль/л). В дальнейшем происходит постепенное снижение уровня  $T_4$  вплоть до 160-дневного возраста ( $23,45 \pm 1,81$  нмоль/л), а  $T_3$  — до 140-дневного ( $1,75 \pm 0,05$  нмоль/л). Молочный период у песцов (от рождения до 20 дней) отличается очень высокой интенсивностью роста (Трубецкой, 1968), что, возможно, связано с повышением уровня йодтиронинов в этом возрасте. Активность щитовидной железы у молодых песцов была в среднем в два раза выше, чем у взрослых (Bieguszewski, Korowajchuk, 1975).

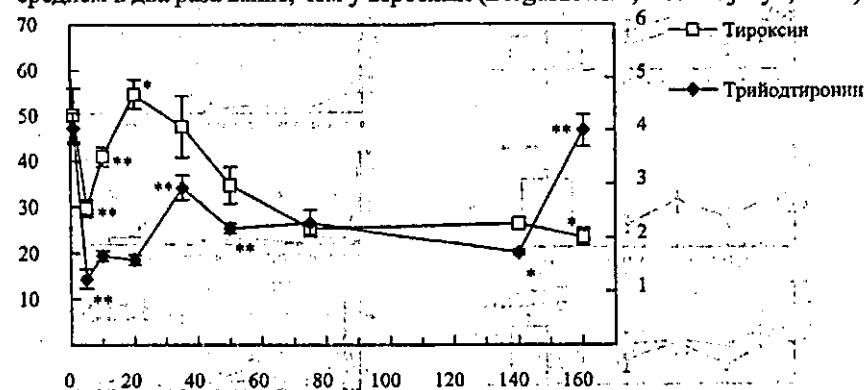


Рис. 1. Содержание йодтиронинов в сыворотке крови песцов в постнатальном онтогенезе. По оси абсцисс — возраст песцов в днях, по левой оси ординат — концентрация ( $M \pm m$ , нмоль/л) тироксина, по правой — трийодтиронина. Различия по сравнению с предыдущим периодом достоверны: \* —  $P < 0,05$ , \*\* —  $P < 0,01$ .

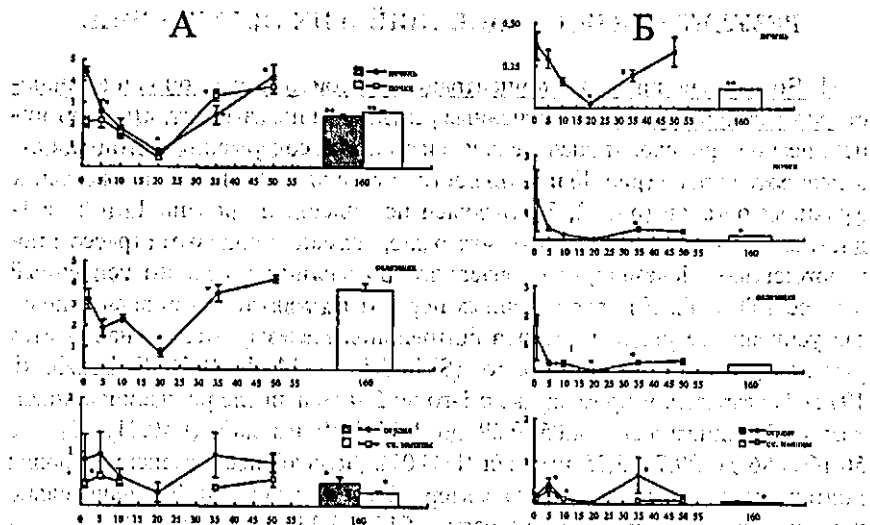


Рис. 2. Общая (А) и удельная (Б) активность катепсина D в лизосомах органов песцов в постнатальном онтогенезе. По оси абсцисс - возраст в днях, по оси ординат - активность фермента ( $M \pm m$ ). Различия по сравнению с предыдущим периодом достоверны: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ .

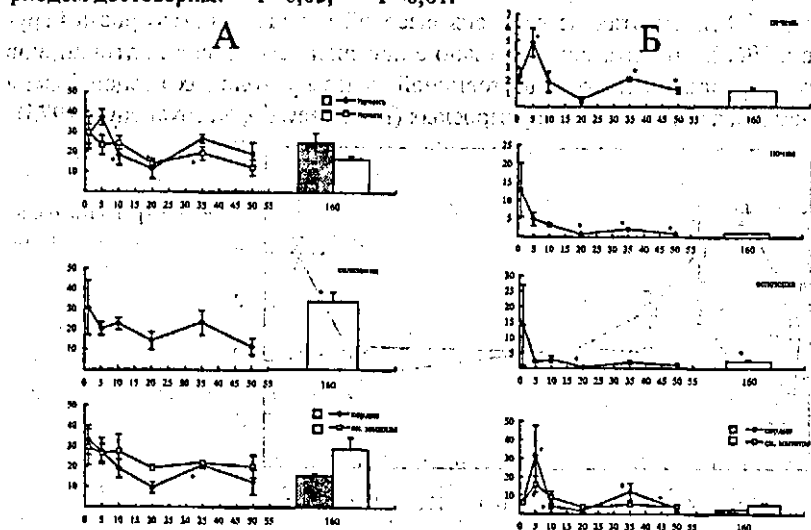


Рис. 3. Общая (А) и удельная (Б) активность катепсина В в лизосомах органов песцов в онтогенезе. По оси абсцисс - возраст в днях, по оси ординат - активность фермента ( $M \pm m$ ). Различия по сравнению с предыдущим периодом достоверны: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ .

Йодтиронины в раннем возрасте обеспечивают онтогенетическое становление многих ферментов (Yeh, Moog, 1973; Протасова, 1975; Yeh et al., 1989; Кучкарова, Рахимов, 2001), необходимы для нормальной регуляции терморегуляции (Steele, Wekstein, 1972), мозга и поведенческих реакций (Best, Duncan, 1969; Hrdina et al., 1975; Walker et al., 1982; Darbra et al., 1994). Наши результаты об изменении уровня йодтиронинов в период после 40 дней согласуются с данными А.Н. Михайловой (1974) о возрастной динамике энергетического обмена у песцов.

В 160-дневном возрасте (в октябре) происходит нарушение синхронности возрастной динамики содержания йодтиронинов в сыворотке крови песцов, заключающееся в значительном снижении уровня  $T_4$  и в повышении  $T_3$ . Аналогичное явление было обнаружено у взрослых самок песцов в зимний период (см. раздел 3.2). Изменение соотношения йодтиронинов в сыворотке крови в холодное время года, по нашему мнению, может быть связано с сезонной адаптацией.

Возрастная динамика содержания белка (рис. 4) в лизосомальных фракциях органов песцов имеет максимум в возрасте 20 дней. В почках и селезенке содержание лизосомального белка в 20-дневном возрасте значительно выше, чем в 10-дневном ( $P < 0,05$ ), а в печени, сердце и мышцах, чем в 5-дневном возрасте ( $P < 0,05$ ). В возрасте 35 дней содержание лизосомального белка снижается в печени, почках и селезенке ( $P < 0,05$ ), а в сердце и мышцах не изменяется. Эти

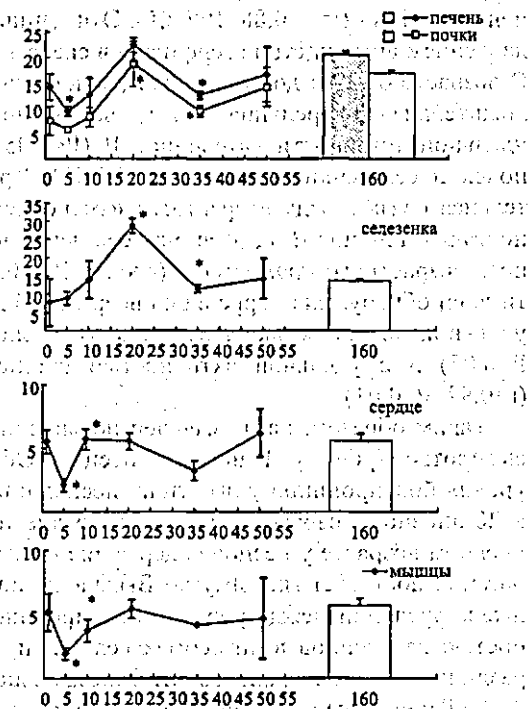


Рис. 4. Концентрация белка в лизосомальной фракции гомогенатов органов песцов в онтогенезе.

По оси абсцисс - возраст песцов в днях, по оси ординат - концентрация белка ( $M \pm m$ ) в мг/мл фракции. Различия по сравнению с предыдущим периодом достоверны: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ .

данные свидетельствуют об усилении анаболических процессов в 20-дневном возрасте у песцов.

В молочном и переходном периоде (до 40 дней) у песцов наблюдается сходство между возрастной динамикой йодтиронинов крови и белка в лизосомах органов. Для периода от 1-го до 35-ти дней коэффициент корреляции для динамики содержания  $T_4$  в сыворотке крови и концентрации белка в лизосомальной фракции скелетных мышц равен  $r=0,98$ ,  $P<0,01$ . Изменение концентрации  $T_4$  в возрасте от 1-го до 50-ти дней связано обратной зависимостью с изменением активности катепсина D в лизосомах скелетных мышц ( $r=-0,93$ ,  $P<0,05$ ). В период от 5-ти до 160-ти дней обнаружена обратная зависимость между активностью катепсина D и концентрацией  $T_3$  ( $r=-0,88$ ,  $P<0,05$ ). Эти данные могут быть связаны с подавлением активности катепсина D в скелетных мышцах йодтиронинами. В возрасте от 1-го до 20-ти дней (молочный период) нами выявлена положительная корреляция между возрастной динамикой уровня  $T_3$  и удельной активности катепсина B ( $P<0,05$ ) и D ( $P<0,01$ ) в лизосомах почек и селезенки песцов ( $r=0,97-0,99$ ). Кроме того, имеется положительная связь между возрастным изменением концентрации  $T_3$  и активностью катепсина B в лизосомах селезенки на протяжении всего изученного возрастного промежутка ( $r=0,82$ ,  $P<0,05$ ). В возрасте от 1-го до 50-ти дней обнаружена корреляция возрастной динамики концентрации  $T_3$  с удельной активностью катепсина B в лизосомах селезенки ( $r=0,85$ ,  $P<0,05$ ) и с удельной активностью катепсина D в лизосомах почек ( $r=0,92$ ,  $P<0,01$ ).

Таким образом, нами выявлен повышенный уровень йодтиронинов в сыворотке крови у 1-дневных песцов. Обнаружена фазная динамика уровня йодтиронинов у растущих песцов с высокими значениями для  $T_4$  в 20-дневном возрасте, для  $T_3$  - в 35-дневном. Установлено, что в 20-дневном возрасте у песцов содержание белка в лизосомальных фракциях органов достигает максимума. Выявлены положительные и отрицательные корреляции между уровнем йодтиронинов сыворотки крови и активностью катепсина в лизосомах селезенки, почек и скелетных мышц в различные периоды раннего онтогенеза песцов.

**2. Тиреоидные гормоны сыворотки крови песцов при различных физиологических состояниях организма.** Обнаружена сезонная динамика уровня тиреоидных гормонов в крови песцов. В период подготовки к гону (январь) содержание  $T_3$  в сыворотке крови взрослых самок песцов было выше, чем в ноябре ( $3,00\pm0,37$  нмоль/л;  $P<0,05$ ), а содержание  $T_4$  в январе не изменилось ( $25,06\pm2,60$  нмоль/л) (рис. 5, А). В марте у покрывшихся самок уровень  $T_3$  достоверно снизился по сравнению с

предыдущим периодом.

( $1,45\pm0,13$  нмоль/л;  $P<0,01$ ), концентрация  $T_4$  не изменилась ( $30,54\pm4,43$  нмоль/л). В апреле (1-я половина беременности) уровень  $T_3$  в сыворотке крови зверей повысился ( $2,96\pm0,17$  нмоль/л;  $P<0,001$ ). Содержание  $T_4$  в апреле составило  $41,13\pm5,05$  нмоль/л, что не отличается от его уровня в марте, но достоверно выше, чем в январе ( $P<0,01$ ). В мае понизился уровень как  $T_3$  ( $1,49\pm0,09$  нмоль/л;  $P<0,001$ ), так и  $T_4$  ( $27,70\pm1,82$  нмоль/л;  $P<0,05$ ), что соответствует нашим результатам о снижении йодтиронинов у самок песцов во 2-й половине беременности. Данные литературы свидетельствуют о повышении активности щитовидной железы в весенний период у енотовидной собаки (Соколов, 1949), у нутрии (Ахметов, 1974), у самцов норки (Boissin-Agasse et al., 1981), лисицы (Maurel, Boissin, 1981) и барсука (Chraïbi et al., 1982). Изменение уровня йодтиронинов в весенний период может быть связано не только с репродуктивным циклом (Karsch et al., 1995; Vigé et al., 1999), но также с сезонным изменением интенсивности обмена веществ и энергетических потребностей (Prestrud, 1991; Lynch et al., 1985; Ryg and Jacobsen, 1982; Korhonen, 1987) и линькой (Бенимский, Клочков, 1979; Benimetsky and Prasolova, 1985). В июне у лактирующих самок песцов было зарегистрировано повышение ( $P<0,05$ ) концентрации  $T_3$  ( $2,30\pm0,35$  нмоль/л) и  $T_4$  ( $42,25\pm7,31$  нмоль/л). В октябре уровень  $T_3$  составил  $2,36\pm0,28$  нмоль/л, а  $T_4$  -  $64,82\pm10,96$  нмоль/л, что не отличается от концентрации йодтиронинов летом. В ноябре происходит снижение ( $P<0,05$ ) концентрации как  $T_3$  ( $1,55\pm0,10$  нмоль/л), так и  $T_4$  ( $27,76\pm0,66$  нмоль/л).

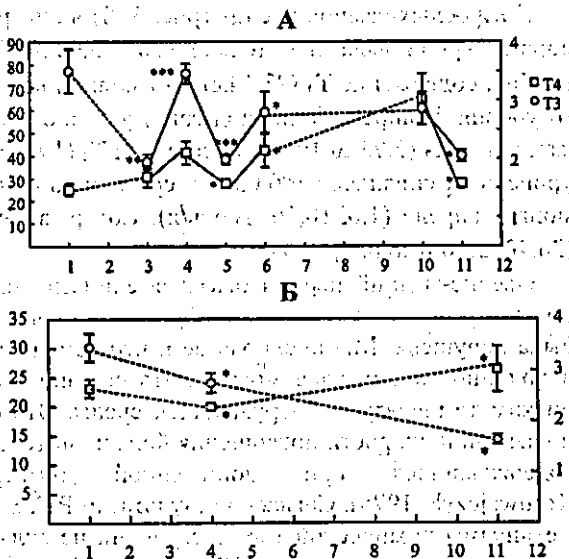


Рис. 5. Концентрация тиреоидных гормонов в сыворотке крови взрослых самок (А) и самцов (Б) песцов в зависимости от времени года. По оси абсцисс - месяцы, по левой оси ординат - концентрация ( $M\pm m$ , нмоль/л) тироксина, по правой - трийодтиронина. Различия по сравнению с предыдущим периодом достоверны: \* -  $P<0,05$ , \*\* -  $P<0,01$ , \*\*\* -  $P<0,001$ .

У взрослых самцов песцов (рис. 5, Б) в январе концентрация  $T_3$  в сыворотке крови была значительно выше ( $3,45 \pm 0,27$  нмоль/л;  $P < 0,05$ ), чем в ноябре; содержание  $T_4$  ( $23,14 \pm 1,59$  нмоль/л) не отличалось от ноябрьского уровня. В апреле (в период гона) у самцов снизилось ( $P < 0,05$ ) содержание как  $T_3$  ( $2,75 \pm 0,19$  нмоль/л), так и  $T_4$  ( $19,94 \pm 0,34$  нмоль/л). В ноябре уровень  $T_3$  снизился ( $P < 0,05$ ) по сравнению с концентрацией этого гормона в апреле ( $1,63 \pm 0,10$  нмоль/л). Содержание  $T_4$ , напротив, возросло ( $26,40 \pm 3,90$  нмоль/л;  $P < 0,05$ ).

Осенне-зимний период оказался единственным, в котором синхронность изменения концентрации йодтиронинов в сыворотке крови песцов была нарушена. Мы предполагаем, что изменение уровня йодтиронинов в холодное время года может быть связано с адаптацией животных к низким температурам окружающей среды. Это соответствует данным о повышении скорости поглощения йода и синтеза йодтиронинов у песцов, содержащихся при пониженной температуре (Bieguszewski, Korowajczyk, 1975). Согласно результатам P.F. Scholander (1950) у песцов механизмы химической терморегуляции не включаются даже при понижении температуры до  $-40^\circ\text{C}$ . Однако по данным Н. Korhonen (1985) нижняя критическая температура у песца  $-6^\circ\text{C}$ .

Дисперсионный анализ показал зависимость содержания  $T_3$  в сыворотке крови самок песцов от стадии беременности ( $P < 0,05$ ). В 1-й половине беременности (до 30 дней) уровень этого гормона составляет  $2,63 \pm 0,23$  нмоль/л, а во 2-й снижается до  $1,32 \pm 0,46$  нмоль/л. В литературе сообщается о снижении содержания  $T_4$  в плазме крови при беременности у крыс (Geloso, Dubois, 1968). Содержание  $T_3$  в мае в сыворотке крови участвовавших в гоне, но пропустовавших самок ( $1,98 \pm 0,14$  нмоль/л) на 16% ниже ( $P < 0,01$ ), чем у беременных ( $2,37 \pm 0,94$  нмоль/л). Напротив, концентрация  $T_4$  у пропустовавших самок песцов ( $39,77 \pm 4,21$  нмоль/л) была на 42% выше ( $P < 0,05$ ), чем у беременных ( $28,08 \pm 2,12$  нмоль/л).

Содержание йодтиронинов в сыворотке крови песцов зависит и от пищевого фактора. У зверей, голодавших в течение 4 суток, уровень  $T_3$  ( $1,18 \pm 0,08$  нмоль/л) был на 26% ( $P < 0,05$ ) ниже по сравнению с контролем ( $1,60 \pm 0,06$  нмоль/л). Концентрация  $T_4$  ( $17,43 \pm 3,49$  нмоль/л) у голодавших песцов оказалась на 35% ( $P < 0,05$ ) ниже по сравнению с контрольной ( $26,94 \pm 1,99$  нмоль/л). Снижение уровня йодтиронинов может являться адаптацией к нехватке корма в зимний период в естественных местах обитания и хорошо согласуется с данными о снижении интенсивности метаболизма у песцов при голодании (Prestrud, 1982).

Таким образом, нами обнаружены сезонные изменения в содержании йодтиронинов в крови взрослых песцов. Весной происходит снижение содержания  $T_3$  как у самок (в марте), так и у самцов (в апреле). В осенне-зимний период отмечается нарушение синхронности изменения содержания йодтиронинов в сыворотке крови. Выявлено снижение уровня  $T_3$  в сыворотке крови самок песцов во 2-й половине беременности. У самок с нарушенной репродуктивной функцией концентрация  $T_4$  значительно выше, а  $T_3$  — ниже, чем у благополучно родивших самок. Голодание приводит к снижению уровня йодтиронинов.

3. Влияние тиреоидных гормонов на обмен белка в крови и органах песцов. Введение тироксина и анти тиреоидного препарата мерказолила привело к соответствующему изменению тиреоидного статуса животных. К концу 3-й недели у песцов 1-й группы содержание  $T_3$  снизилось по сравнению с исходными данными на 31% ( $P < 0,05$ ), а  $T_4$  — на 25% ( $P < 0,05$ ). Во 2-й группе произошло изменение концентрации лишь  $T_4$ , которая понизилась на 22% ( $P < 0,05$ ).

У зверей контрольной и 1-й групп содержание гемоглобина в процессе эксперимента в крови выросло ( $P < 0,01$ ) на 15,4% и 16,3% соответственно. Во 2-й группе повысилась концентрация эритроцитов на 5,5% ( $P < 0,05$ ). Фракционный состав белка сыворотки крови также претерпел некоторые изменения. Относительное количество альбуминов снизилось у контрольных животных на 11% ( $P < 0,05$ ), в 1-й группе — на 12,4% ( $P < 0,05$ ), во 2-й и 3-й группах оно не изменилось. Во всех группах уменьшилась относительная концентрация  $\alpha$ -глобулинов: максимально в 3-й группе (на 40,6%,  $P < 0,05$ ) и на 37,7% в 1-й и 2-й группах ( $P < 0,01$ ). В контроле снижение фракции  $\alpha$ -глобулинов было минимальным — на 24% ( $P < 0,01$ ). Уровень  $\beta$ -глобулинов увеличился во всех группах: максимально в 1-й группе — на 92,5% ( $P < 0,01$ ), во 2-й — на 66,8% ( $P < 0,01$ ). В 3-й группе и контроле увеличение  $\beta$ -глобулиновой фракции было приблизительно одинаковым — на 78,8% ( $P < 0,05$ ) и на 77,7% ( $P < 0,01$ ) соответственно. Уровень  $\gamma$ -глобулинов увеличился во всех группах, кроме контрольной, причем в 1-й группе содержание этой фракции выросло на 53,4%, во 2-й — на 43,4%, а в 3-й — на 53,5% ( $P < 0,05$ ).

В конце эксперимента у животных 1-й группы концентрация  $T_3$  оказалась ниже контрольной на 21% ( $P < 0,05$ ), а концентрация  $T_4$  — на 22% ( $P < 0,05$ ). Во 2-й группе содержание йодтиронинов не отличалось от контрольного. В 3-й группе наблюдалось повышение уровня  $T_4$  на 25,4% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

Содержание гемоглобина, эритроцитов и общего белка сыворотки крови у животных опытных групп соответствовало таковому у животных контрольной группы. Уровень  $\alpha$ -глобулинов во всех опытных группах был значительно ниже, чем в контроле: в 1-й группе - на 14,6% ( $P<0,05$ ), во 2-й - на 14,3% ( $P<0,05$ ), а в 3-й - на 19,5% ( $P<0,05$ ). Содержание других белковых фракций в контроле и опыте не различалось. Показано, что при недостаточности функции пищевидной железы наблюдается снижение альбуминовой и  $\alpha$ -глобулиновой фракции белков плазмы крови. К  $\alpha$ -глобулинам относится тироксинсвязывающий глобулин, с которым у человека связывается до 60%  $T_4$ , у крысы - 18% ("Тиреоидные гормоны", 1972). Средние дозы йодтиронинов, как правило, вызывают повышение уровня большинства гликопротеидных компонентов в крови, а большие дозы - снижение (Кузьмак, 1975). Секреция  $\alpha_1$ -антитрипсина, относящегося к  $\alpha$ -глобулинам, может подавляться при введении  $T_3$  (Kobayashi, Horiuchi, 1995).

Поскольку известно, что мерказолил и  $T_4$  разнонаправленно влияют на содержание йодтиронинов в крови у животных, мы провели сравнение изученных показателей у зверей, которым вводили мерказолил и  $T_4$ . В 1-й группе, в которой вводили мерказолил, содержание  $T_3$  было ниже, чем в 3-й, на 25% ( $P<0,05$ ),  $T_4$  - на 38% ( $P<0,01$ ). Уровень  $T_4$  при введении мерказолила с перерывами был снижен по сравнению с 3-й группой на 24% ( $P<0,01$ ).

Общая активность катепсина D (рис. 6) в лизосомальных фракциях гомогенатов в 1-й группе была ниже, чем в контроле, на 20,5% в почках ( $P<0,01$ ), на 22,3% в селезенке ( $P<0,05$ ) и на 58,4% в мышцах ( $P<0,01$ ). Во 2-й группе она также была снижена: в печени - на 21,7% ( $P<0,05$ ), в почках - на 23,7% ( $P<0,05$ ), а в селезенке - на 30,8% ( $P<0,05$ ) по сравнению с контролем. Удельная активность катепсина D в лизосомальной фракции мышечной ткани у животных 1-й группы оказалась ниже контрольной на 54% ( $P<0,01$ ). В 3-й группе этот показатель был повышен ( $P<0,05$ ) на 27,9% в печени и на 33,1% в почках. Сравнение 1-й и 2-й групп с 3-й показало, что влияние мерказолила и  $T_4$  на общую активность катепсина D в лизосомах почек, селезенки, сердца и мышц носит разнонаправленный характер. Во всех этих органах общая активность катепсина D в 1-й и 2-й группах меньше, чем в 3-й ( $P<0,05$ ). Следовательно, общая активность катепсина D в лизосомах этих органов возрастает при повышении уровня йодтиронинов в крови (в физиологических пределах). Удельная ак-

тивность катепсина D в лизосомах сердца и мышц изменяется аналогично.

Общая активность катепсина B (рис. 7) в лизосомах сердца у песцов 2-й группы превосходила таковую у контрольных зверей на 94,6% ( $P<0,05$ ). Напротив, в 3-й группе в селезенке общая активность катепсина B в изученной фракции снизилась по сравнению с контролем на 38% ( $P<0,05$ ). Удельная активность катепсина B повысилась ( $P<0,05$ ) на 71,3% в печени, на 192,9% в почках и на 165,9% в сердце. У животных 3-й группы удельная активность катепсина B изменилась лишь в селезенке, где она понизилась на 42,2% по сравнению с контролем.

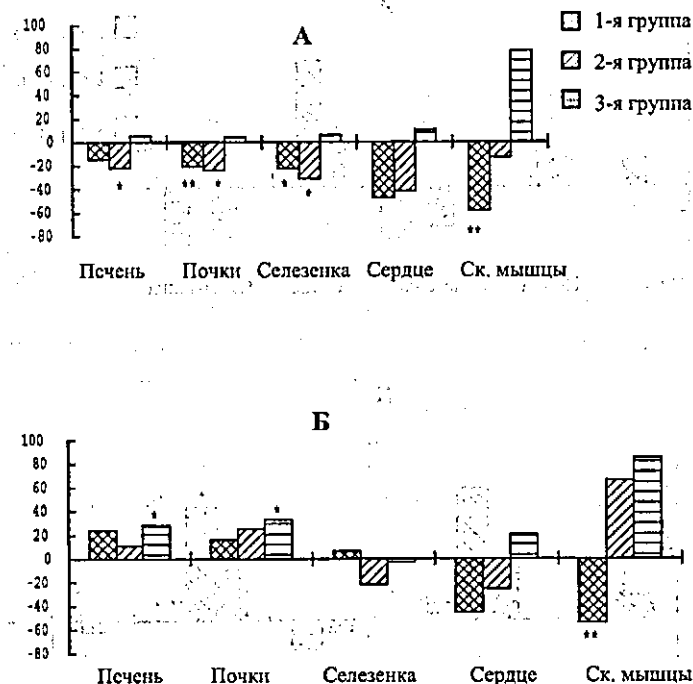


Рис. 6. Общая (А) и удельная (Б) активность катепсина D в лизосомальных фракциях органов песцов в опыте с применением мерказолила и  $T_4$  (в % по отношению к контролю). Различия по сравнению с контролем достоверны: \* -  $P<0,05$ , \*\* -  $P<0,01$ .



Активность катепсинов в наших экспериментах проявляла органоспецифичность. В контрольной группе высокая общая активность катепсина D у песцов была выявлена в лизосомах селезенки ( $3,68 \pm 0,27$ ), почек ( $2,58 \pm 0,08$ ) и печени ( $2,35 \pm 0,10$ ), катепсина В — в лизосомах селезенки ( $33,19 \pm 4,65$ ), печени ( $24,73 \pm 4,84$ ) и скелетных мышц ( $28,23 \pm 5,42$ ). В лизосомах сердца и мышц общая активность катепсина D была относительно низкой ( $0,42 \pm 0,12$  и  $0,25 \pm 0,04$  соответственно). Общая активность катепсина В была сравнительно низкой в лизосомах почек и сердца ( $16,60 \pm 1,38$  и  $15,40 \pm 1,28$  соответственно). Отмечено, что в органах крысы и человека высокая активность катепсина В наблюдается в селезенке, щитовидной железе, печени и почках, низкая — в крови, сердце, головном мозге и скелетных мышцах (Мосолов, 1971; Shuja et al., 1991).

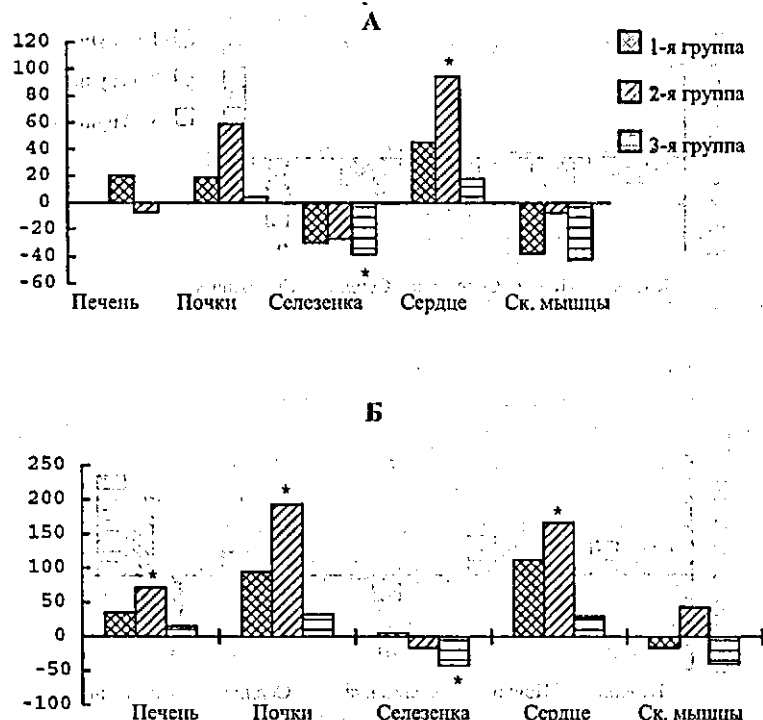


Рис. 7. Общая (А) и удельная (Б) активность катепсина В в лизосомальных фракциях органов песцов в опыте с применением мерказолила и  $T_4$  (в % по отношению к контролю). Различия по сравнению с контролем достоверны: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ .

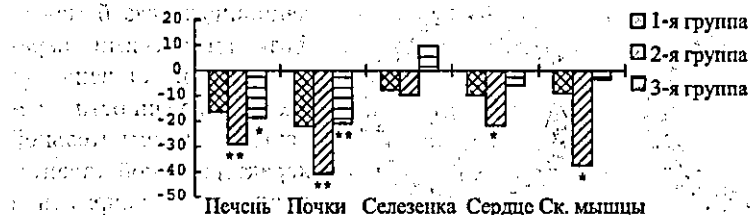


Рис. 8. Содержание белка в лизосомальных фракциях органов песцов в опыте с применением мерказолила и  $T_4$  (в % по отношению к контролю). Различия по сравнению с контролем достоверны: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ .

Содержание белка лизосомальной фракции значительно отличалось от контрольного в печени, почках, сердце и мышцах (рис. 8). Во 2-й группе оно было значительно ниже, чем в контроле — на 29% в печени ( $P < 0,01$ ), на 40,8% в почках ( $P < 0,01$ ), на 21,6% в сердце ( $P < 0,05$ ) и на 37,5% в мышцах ( $P < 0,05$ ). В 3-й группе концентрация белка уменьшилась относительно контроля в лизосомальных фракциях печени на 18,5% ( $P < 0,05$ ) и почек на 20,8% ( $P < 0,01$ ). Поскольку у животных 3-й группы было обнаружено повышение удельной активности катепсина D в лизосомальных фракциях печени и почек с одновременным снижением содержания белка, можно предположить, что в этих органах введение  $T_4$  привело к усилению катаболизма белков.

В литературе сообщается о повышении активности катепсинов в печени крысы под воздействием йодтироининов (Mathies et al., 1951; Протасова, 1975; Satav, Katyare, 1981; Мартыненко, Корнюшенко, 1984). При диффузном токсическом зобе средней тяжести у пациентов с нормо- или гипергликемией по сравнению со здоровыми отмечено повышение активности катепсинов сыворотки крови (Григорьева и др., 1982).

Корреляционный анализ связей между различными показателями (рис. 9) выявил, что количество корреляционных связей в контроле равнялось 20-ти, в то время как в 1-й опытной группе их количество было максимальным для всех групп (27 связей). Во 2-й и 3-й группах количество корреляций было меньше, чем в контроле — 10 и 14 соответственно. Характер связей в разных группах также был различным. В контроле преобладали положительные корреляции (18 из 20-ти). У животных, получавших мерказолил (1-я и 2-я группы), количество положительных и отрицательных связей было примерно равным. В 3-й группе все обнаруженные корреляции были положительными.

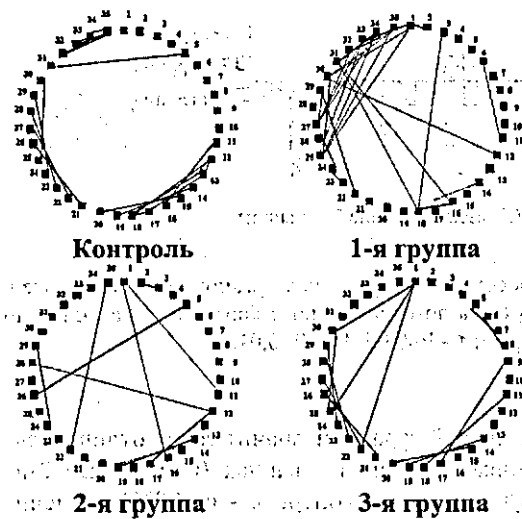


Рис. 9. Корреляционные связи между весом и биохимическими показателями у песцов в опыте с применением мерказолила и тироксина. Цифрами обозначены: вес (1), концентрация трийодтиронина (2) и тироксина (3) в сыворотке крови, гемоглобин (4), эритроциты (5), концентрация белка в сыворотке крови (6), альбумины (7),  $\alpha$ -глобулины (8),  $\beta$ -глобулины (9),  $\gamma$ -глобулины (10), общая активность катепсина D в лизосомах печени (11), почек (12), селезенки (13), сердца (14), мышц (15), удельная активность катепсина D в лизосомах печени (16), почек (17), селезенки (18), сердца (19), мышц (20), общая активность катепсина B в лизосомах печени (21), почек (22), селезенки (23), сердца (24), мышц (25), удельная активность катепсина B в лизосомах печени (26), почек (27), селезенки (28), сердца (29), мышц (30), содержание белка в лизосомальной фракции печени (31), почек (32), селезенки (33), сердца (34), мышц (35).

соответствовало естественной физиологической подготовке к зимнему сезону, заключающейся в накоплении жировых запасов. Таким образом, была установлена высокая активность (по сравнению с другими органами) катепсина D в лизосомах селезенки, почек и печени, катепсина B - в лизосомах селезенки, печени и скелетных мышц песца. Введение  $T_4$  и мерказолила песцам приводит к снижению содержания  $\alpha$ -глобулинов в сыворотке крови, при этом в большей степени этот эффект

ляционных связей между физиологическими параметрами и степень их скоррелированности являются чувствительной характеристикой адаптационного напряжения (Горбань и др., 1989). Если исходить из этой точки зрения, то введение препаратов значительно всего сказалось на песцах 1-й группы (в которой ежедневно вводили мерказолил) и привело к существенным изменениям изученных показателей. В то же время количество достоверно изменившихся, по сравнению с контролем показателей в 1-й группе минимально. Сопоставление этих данных позволяет предположить, что самое сильное воздействие на животных оказало ежедневное введение мерказолила, однако нет достаточных оснований считать его неблагоприятным. Возможно, что введение мерказолила песцам в осенний период соответствовало естественной физиологической подготовке к зимнему сезону, заключающейся в накоплении жировых запасов. Таким образом, была установлена высокая активность (по сравнению с другими органами) катепсина D в лизосомах селезенки, почек и печени, катепсина B - в лизосомах селезенки, печени и скелетных мышц песца. Введение  $T_4$  и мерказолила песцам приводит к снижению содержания  $\alpha$ -глобулинов в сыворотке крови, при этом в большей степени этот эффект

характерен для  $T_4$ . Удельная активность катепсина B в лизосомах печени, почек и сердца значительно повышается при введении мерказолила с перерывами. В печени и почках введение  $T_4$  привело к усилению катаболических процессов, что проявилось в повышении удельной активности катепсина D и в снижении содержания белка в лизосомальных фракциях этих органов. В лизосомальных фракциях печени, почек, сердца и мышц общая активность катепсина D находится в прямой зависимости от концентрации  $T_4$  в сыворотке крови, что указывает на большое значение йодтиронинов в регуляции протеолиза в этих тканях.

### Выводы

1. Возрастная динамика содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови отражает особенности энергетического и пластического обмена на разных этапах их развития. У 1-дневных песцов уровень тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови выше, чем у 5-дневных, в 1,7 и 3,3 раза, соответственно. Обнаружена фазная динамика уровня тиреоидных гормонов у растущих песцов со сравнительно высокими значениями для тироксина в 20-дневном возрасте, для трийодтиронина в 35-дневном. Содержание белка в лизосомальных фракциях органов достигает максимума в 20-дневном возрасте, что может быть связано с усилением анаболических процессов в этом возрасте.
2. В осенний и зимний периоды наблюдается асинхронность изменения уровня йодтиронинов в сыворотке крови песцов. Это является следствием изменения соотношения концентраций тироксина и трийодтиронина при воздействии сезонно изменяющихся факторов среды.
3. Установлена зависимость содержания  $T_3$  в сыворотке крови самок песцов от стадии беременности ( $P < 0,05$ ). В первой половине беременности (до 30 дней) уровень этого гормона составляет  $2,63 \pm 0,23$  нмоль/л, а во второй снижается вдвое. У самок песцов с нарушенной репродуктивной функцией концентрация тироксина была значительно выше, а трийодтиронина ниже, чем у благополучно родивших, что свидетельствует о важной роли тиреоидных гормонов в регуляции репродукции у песцов.
4. Голодание приводит к снижению уровня йодтиронинов в сыворотке крови песцов, что является, скорее всего, адаптивной реакцией организма животных, направленной на сбережение энергетических ресурсов (запасных углеводов, липидов, белков) в условиях пищевой депривации.
5. Изменение активности протеолитических ферментов лизосом (катепсинов B и D) в печени, почках, селезенке, сердце и мышцах песцов в онтогенезе происходит, в основном, синхронно с изменением уровня

йодтиронинов в сыворотке крови. Обнаружены положительные корреляции ( $r = 0,82-0,99$ ) между возрастной динамикой уровня трийодтиронина и активности (общей или удельной) катепсина В и D в лизосомах почек и селезенки в различные периоды раннего постнатального развития песцов. Выявлена отрицательная корреляция ( $r = -0,88-0,93$ ) между возрастной динамикой содержания йодтиронинов и общей активности катепсина D в лизосомах мышц в период роста песцов. Установлено, что максимальная активность катепсина D у песцов обнаруживается в лизосомах селезенки, почек и печени, а катепсина В - в лизосомах селезенки, печени и скелетных мышц. При этом сравнительно низкая активность катепсина D была выявлена в лизосомах сердца и скелетных мышц, а катепсина В - в лизосомах почек и сердца. Это в основном соответствует данным о распределении активности этих протеиназ в органах крысы и человека.

7. Введение тироксина 5-месячным песцам приводит к повышению удельной активности катепсина D и снижению содержания белка в лизосомальных фракциях. В сердце и мышцах 5-месячных песцов удельная активность катепсина D зависит от степени повышения уровня тироксина в сыворотке крови. При введении антигипертиреоидного препарата мерказолила с перерывами значительно повышается удельная активность катепсина В в лизосомах печени, почек и сердца.

8. Введение тироксина и мерказолила 5-месячным песцам приводит к изменению фракционного состава белка сыворотки крови, которое заключается в снижении содержания  $\alpha$ -глобулинов в сыворотке крови, что может приводить к изменению концентрации тироксинсвязывающего глобулина в крови животных.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ (ДИССЕРТАЦИИ)

1. Рендаков Н.Л., Сироткина Л.Н., Баишникова И.В. Содержание тиреоидных гормонов, прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови норки и песцов в осенний период // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Финноскандии: Тез. докл. Межд. конф. и выездн. сессии отделения Общей биологии РАН. Петрозаводск, 1999. С. 99.
2. Рендаков Н.Л., Сироткина Л.Н., Баишникова И.В. Содержание тиреоидных и половых гормонов у норки и песцов в осенний период // Актуальные проблемы биологии: Тез. докл. VI молодежной науч. конф. Сыктывкар, 1999. С. 169.

3. Tyutyunnik N.N., Sirotkina L.N., Rendakov N.L. The hormonal status in mink and fox during the first year of life // VII International Scientific Congress in Fur Animal Production. 13-15 Sept. Greece. Kastoria. 2000. P. 11-13.

4. Рендаков Н.Л. Содержание тиреоидных гормонов и активность катепсина В и D в раннем онтогенезе у песцов // Биоразнообразие Европейского Севера (теоретические основы изучения, социально-правовые аспекты использования и охраны): Тез. докл. конф. Петрозаводск, 2001. С. 307.

5. Рендаков Н.Л., Сироткина Л.Н., Тютюнник Н.Н. Тиреоидные гормоны и катепсины В и D в раннем онтогенезе у песцов // Современные проблемы биондикации и биомониторинга: Тез. докл. XI Межд. симпозиума по биондикации. Сыктывкар, 2001. С. 344-345.

6. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н., Немова Н.Н. Катепсины В и D и тиреоидные гормоны у песцов // Биология - наука XXI века: Тез. докл. 6-й Пушкинской школы-конференции молодых ученых. Т.1. Пушкино, 2002. С. 309.

7. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н., Крупнова М.Ю., Немова Н.Н. Тиреоидные гормоны и лизосомальные протеиназы в постнатальном онтогенезе песцов // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ВНИИОЗ 28-31 мая 2002 г. Киров, 2002. С. 583-585.

8. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н., Сироткина Л.Н., Крупнова М.Ю., Немова Н.Н. Тиреоидные гормоны и лизосомальные протеиназы в органах песцов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2003. Т. 39. №. 3. С. 234-236.

9. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н. Тиреоидные гормоны у песцов в период роста // Териофауна России и сопредельных территорий: Материалы Международного совещания 6-7 февраля 2003 г. Москва, 2003. С. 293.

10. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н. Влияние тироксина и мерказолила на активность катепсина D в органах песца // Биология - наука XXI века: Тез. докл. 7-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых 14-18 апреля 2003 г. Пушкино, 2003. С. 369.

11. Рендаков Н.Л. Влияние сезона, возраста и кормления на содержание тиреоидных гормонов в крови песца (*Alopex lagopus* L.) // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы X Молодежной науч. конф. Сыктывкар, 2003. С. 186-187.

12. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н. Содержание тиреоидных гормонов у самок песцов в зимний и весенний период // Новые биотехнологические и телемедицинские технологии 21 века для диагностики и лечения заболеваний человека: Материалы междисциплинар. конф. с междунар. участием 23-25 июня 2003 г. Петрозаводск, 2003. С. 40.

13.Тютюнник Н.Н., Кожевникова Л.К., Узенбаева Л.Б., Илюха В.А., Ильина Т.Н., Петрова Г.Г., Сироткина Л.Н., Малинина Г.М., Унжаков А.Р., Рендаков Н.Л., Олейник В.М., Свечкина Е.Б. Физиолого-биохимический статус пушных зверей и пути его оптимизации // Наземные и водные экосистемы Северной Европы: управление и охрана: Материалы междунар. конф., посвященной 50-летию Института биологии КарНЦ РАН (8-11 сентября 2003 г.). Петрозаводск, 2003. С. 159-169.

Изд. лиц. № 00041 от 30.08.99. Подписано в печать 01.10.03. Формат 60×84<sup>1/16</sup>.  
Бумага офсетная UNION PRINT S. Гарнитура «Times». Печать офсетная.  
Уч.-изд. л. 1,4. Усл. печ. л. 1,3. Тираж 100 экз. Изд. № 57. Заказ № 364

Карельский научный центр РАН  
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50  
Редакционно-издательский отдел

153886K